



TITLE:

霊長類免疫グロブリンCa遺伝子の進化(Ⅲ 共同利用研究 2.研究成果)

AUTHOR(S):

河村, 正二

CITATION:

河村, 正二. 霊長類免疫グロブリンCa遺伝子の進化(Ⅲ 共同利用研究 2.研究成果). 霊長類研究所年報 1989, 19: 57-58

ISSUE DATE:

1989-09-30

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/163911>

RIGHT:

遺伝子の存在を仮定することによって説明可能なパターンが得られた。もっとも変異に富んでいたものはマレーシアのカニクイ（10頭）で10種、また、アッサム（10頭）で7種の対立遺伝子を示した。ニホンザルは4種の対立遺伝子に支配され、そのうち、2種はカニクイやアカゲ・ブタオと共通で、残りは独特なものであり、ヤクシマザルにも2種みられた。

オマキザル上科：6属8種22頭の分析の結果、ケナガクモザルを除いて単一バンドパターンを示し、フサオマキザルのみヘテロ型であると考えられた。

原猿類：3属3種8頭を調べたが、いずれも抗ヒトORM抗体に対してバンドを形成せず、抗ヒトORM抗体のヒトへの特異性が比較的高く、法医学的応用への有用性が示唆された。

ヒト上科のいくつかの個体にはメジャーバンドより陰極にうすいバンドが検出されたが、これらが第2座のものか単にマイナーバンドなのか断定できなかった。家系分析やDNAレベルでの解析が必要であろう。霊長類、とくに、マカカ属においては極めて高い多型性を示し、有効な生化学的遺伝標識になると考えられる。

DNA多型現象の霊長類の系統分化と個体識別研究への応用

中堀 豊・中込弥男（小児医療研セ）

我々が開発したクローニング用ベクター pYN 87006を用いると、セルソータのY染色体分画より作製したEcoRIライブラリーから、Y由来の非反復配列を極めて効率良くクローン化できることが分かった。これを用いて約30クローン強を得、そのうち11については、ヒトY染色体上の局在を定めることができた。

これらをプローブとし、ヒト・チンパンジーから原猿類に至る種々な霊長類よりDNAを得てサザンブロット法により解析したところ、クローンY10はヒトのみでY染色体上にマップされ、残る総ての霊長類（今回検査した10種強）において常染色体上に座位を占めることが分かった。ニホンザルについては、行動の観察等より親子関係の明らかな組を含めて約30頭よりDNA解析用のサンプルを得ることができたが、Y10をプローブとするDNA多型解析により、31例中29例を個々に識

別でき、また親子の組については総てのバンドについて親から子への伝承を辿ることができた。ニホンザルの社会や行動の解析において、DNAレベルの解析が大いに役立つ可能性が示されたことになる。

他の10種のクローンについては、原猿から旧世界ザルの一部まで常染色体性で、以後Y特異性のバンドが出現するもの、同様にX特異性のバンドのみが見られながらヒトとチンパンジーのみでY特異性のバンドが見られるもの、新世界ザルの一部と旧世界ザルを通じてY特異性の見られるものなど種々な特徴が見られた。結局、ヒトのY染色体は、進化の種々な時期に、常染色体やX染色体の短腕・長腕の種々な部分から移って来たDNAよりなる、寄木細工のような構造を持つことが明らかになった。逆にDNAレベルでのY染色体の解析が、系統分類などに役立つ可能性が出てきたことになる。

なお今回クローン化したDNAのうちに、調査した総ての霊長類とマウス、ラット、牛でX染色体上に保存されており、幾つかの種ではY上にも相同ないしそれに近い塩基配列が検出されるものが有った。その本態、詳細な構造などについては、現在解析を進めている。

霊長類免疫グロブリンC α 遺伝子の進化

河村正二（東京大・理）

昭和62年度共同利用研究により、ヒト上科の進化の過程で免疫グロブリンC α 及びC ϵ 遺伝子のコピー数が、遺伝子重複あるいは欠失により変化してきたことが明らかになった。一方、C α 遺伝子はそのヒンジ領域の長さが、進化の過程で変化してきたことが、ヒト及びアフリカ産類人猿そしてマウスでの比較から明らかにされている。そこで昭和63年度共同利用研究では、オランウータン、テナガザルそしてヒト上科のアウトグループとして旧世界ザルについて、C α 遺伝子ヒンジ領域の塩基配列を明らかにし、昭和62年度の結果と合わせて、ヒト上科全体でのC α 遺伝子の進化の動態を知ることを目的とした。

オランウータンC α 遺伝子ヒンジ領域は、6塩基の欠失を除けばヒト及びアフリカ産類人猿のC α 1遺伝子と同じタイプ即ち、15塩基ユニットがイントロン部分を含めて5回繰り返した構造を

有するとみなすことができた。

テナガザルは2つのC α 遺伝子を有するが、そのうち一方のヒンジ領域はヒト及びアフリカ産類人猿のC α 2遺伝子と同じタイプ即ち、15塩基ユニットがイントロン部分を含めて2回繰り返した構造を有するとみなすことができた。そこでこのC α 遺伝子をC α 2遺伝子と呼び、他方をC α 1遺伝子と呼ぶことにした。C α 1遺伝子ヒンジ領域はC α 2タイプの15塩基リピートの間に、エクソンの15塩基ユニット中の9塩基が重複して入りこんだ構造をしていた。

カニクイザルC α 遺伝子のヒンジ領域は15塩基ユニットの繰り返し構造を有さず、長さがヒト上科のどれとも異なっていた。

旧世界ザルにおいてはヒト上科とは独立した、しかも点突然変異以外のイベントがC α 遺伝子ヒンジ領域に生じたと考えられる。ヒト上科においてもこの領域に重複や欠失が繰り返し生じてきたと考えられる。平成元年度の共同利用研究では、類人猿と旧世界ザルのC α 遺伝子の全塩基配列を決定し、遺伝子重複の生じた時期を明らかにし、その上でヒンジ領域に生じた重複や欠失の時期を明らかにしていく予定である。

課 題 13

新生直後の霊長類幼体における長鎖不飽和脂肪酸合成酵素活性に関する研究

藤本健四郎・金沢文子（東北大・農）

n-3系の長鎖ポリエン酸であるドコサヘキサエン酸は、脳および網膜などの神経系膜組織に多く含まれる。前年度研究では、ニホンザル初乳の脂質組成がヒトのそれに近似していること、ドコサヘキサエン酸が乳脂脂肪酸の2%を占めることを明らかにし、乳仔の場合、ドコサヘキサエン酸の外部からの供給が不可欠であることを予想した。そこで、本年度は、ニホンザル新生児、幼若獣、成獣（各一例）の大脳皮質の長鎖高度不飽和脂肪酸合成能を比較するために実験を行った。大脳皮質より調製したミクロソームを¹⁴C-リノール酸、リノレン酸またはエイコサペンタエン酸を含む反応液に添加し、37°C、20分間のインキュベーションを行った。反応後、抽出した脂肪酸をメタノリシスし、HPLCで分画し、各脂肪酸の放射活性

を測定した。その結果、幼若獣でかなり高い活性を認めたが、新生児および成獣では脂肪酸合成能が弱いことを認め、加齢による影響があることが強く示唆された。肝臓での実験では鎖長伸長生成物（18:2→20:2、18:3→20:3、20:5→22:5）が特徴的に多かったが、大脳皮質では特に多くの鎖長伸長物の誘導は認められず、むしろ不飽和化産物（18:2→20:4、18:3→22:6、20:5→22:6）が多かった。また、前頭前野、側頭野、視覚野の脂質分析をしたところ、ドコサヘキサエン酸含量は視覚野で最も多かったが、脂肪酸合成能に差異を認めなかった。

また、カニクイザル成獣一例、胎生150日三例の肝臓について同様の実験を行ったところ、胎児の肝臓に成獣の場合と同程度の脂肪酸合成力があることを認めた。すでに胎生150日では、肝臓が生体膜の構成成分であるドコサヘキサエン酸の供給源のひとつとして役割を果たしていると考えられる。

今後、さらに例数を増やし、加齢と脂質代謝との兼ね合い、特に成長期と老化について明らかにしていきたい。

ニホンザル肝細胞膜に存在する酸性プロテアーゼの生理機能

森山昭彦（名古屋市大）

従来から知られている動物組織の酸性プロテアーゼは、赤血球膜結合性酸性プロテアーゼを除いてすべて可溶性の酵素である。しかしながら、組織抽出液を超遠心により分画すると、膜を含む沈殿画分にもある程度の酸性プロテアーゼ活性の存在することが知られている。ニホンザルは、既に胃ペプシノーゲン類、肺カタペシンD、および肺と前立腺のペプシノーゲン様酸性プロテアーゼ前駆体などの性質が明らかにされており、酸性プロテアーゼについては最も研究の進んでいる動物である。また、ニホンザルの諸臓器を用いた予備実験により、肝臓抽出液不溶性画分に比較的強い酸性プロテアーゼ活性が見い出された。そこで、本研究ではニホンザル肝より、膜結合型酸性プロテアーゼを精製し、その性質を調べた。活性は酸変性ヘモグロビンを基質とし、pH4.0で測定した。

肝臓粗抽出液を超遠心により分画すると、酸性プロテアーゼ活性の35%が膜画分に回収された。